

## Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Bacterium)

产品编号	产品名称	包装
D7362S	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Bacterium)	100U
D7362M	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Bacterium)	500U

### 产品简介:

- 碧云天生产的 Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Bacterium), 也称 Heat-labile Bacterial UDG, 即热敏型细菌 UDG, 来源于嗜冷海洋细菌(*psychrophilic marine bacterium*) BMTU3346, 可催化含尿嘧啶的 DNA 链中的尿嘧啶(dU)碱基和脱氧核糖之间的 N-糖苷键发生水解, 从而释放游离尿嘧啶。Uracil-DNA Glycosylase (UDG)可以水解含有 dU 的单链或双链 DNA, 但不能水解 RNA 或含有 dU 的长度不超过 6 个碱基 DNA 寡聚体。
- UDG 主要应用于消除 PCR 扩增过程中带来的产物污染问题。其防止污染的原理为: 在 PCR 反应中加入适量的 dUTP, 以 dUTP 替代 dTTP 掺入 DNA 中, 形成含 dU 碱基的 PCR 扩增产物; 后续进行 PCR 反应时, 使用 UDG 酶选择性切割可能被污染而带入的之前 PCR 扩增产生的含有 dU 的单链或双链 DNA, 从而避免之前的 PCR 扩增产物可能的污染对于本次 PCR 扩增带来的负面影响。
- 本产品为热敏型, 在 50°C 孵育 10 分钟可以迅速不可逆灭活。在 PCR 或 RT-PCR 反应前, PCR 或 RT-PCR 体系中加入 Heat-labile Bacterium UDG 室温处理 10min, 即可充分消除可能的之前的含有 dUTP 的 PCR 扩增产物的污染。本产品不仅适用于 PCR, 也适用于 qPCR、RT-PCR 和 qRT-PCR 等体系。
- 活性定义: One unit is defined as the amount of enzyme that catalyzes the release of 60 pmol of uracil per minute from double-stranded, uracilcontaining DNA. Activity is measured by release of [3H]-uracil in a 50  $\mu$ l Standard Taq Reaction Buffer containing 0.2  $\mu$ g DNA (104–105 cpm/ $\mu$ g) in 30 minutes at 37°C.
- 碧云天生产的 Heat-labile Bacterial UDG 酶活性鉴定结果可参考图 1。

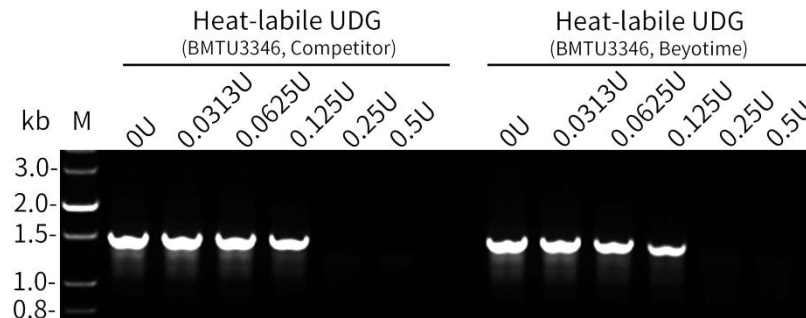


图1. 碧云天和N公司的Heat-labile Bacterial UDG催化酶解5 $\mu$ l含dU碱基的PCR扩增产物效果图。使用本产品或国外N公司的酶, 在20 $\mu$ l体系, 分别以5 $\mu$ l含dU碱基的PCR扩增1500bp PCR产物为底物和不同量的(0U, 0.0313U, 0.0625U, 0.125U, 0.25U, 0.5U) Heat-labile Bacterial UDG, 在1X Heat-labile Bacterial UDG Buffer, 37°C孵育30min, 然后进行1%的琼脂糖凝胶电泳检测。如图所示, 本产品与N公司相比, 具有相当的酶活。M, DNA marker (D0110 DNA Ladder (0.2-12 kb, 12 bands))。

- 碧云天生产的 Heat-labile Bacterial UDG 经灭活处理后酶活鉴定结果可参考图 2。

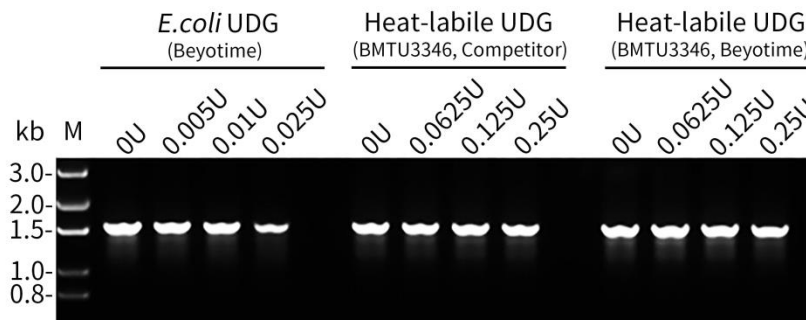


图2. 碧云天和N公司的Heat-labile Bacterial UDG以及碧云天生产的*E.coli* UDG (D7360)经50°C10min处理后, 催化酶解5 $\mu$ l含dU碱基的PCR扩增产物效果图。将不同量的*E.coli* UDG (0U, 0.005U, 0.01U, 0.025U)和碧云天以及N公司不同量的Heat-labile

Bacterial UDG (0U, 0.0625U, 0.125U, 0.25U)经50°C处理10min之后, 在20μl体系, 分别以5μl含dU碱基的PCR扩增1500bp PCR产物为底物, 在1X Heat-labile Bacterial UDG Buffer, 37°C孵育30min, 然后进行1%的琼脂糖凝胶电泳检测。如图所示, *E.coli* UDG 50°C处理10min之后酶活力轻微下降, 而碧云天和N公司的Heat-labile Bacterial UDG均完全灭活。M, DNA marker (D0110 DNA Ladder (0.2-12 kb, 12 bands))。

- **来源:** 大肠杆菌重组、表达和纯化而获得。
- **纯度:** 不含 UDG 酶活力之外的内切或外切脱氧核糖核酸酶、RNase 和磷酸酶活性。
- **用途:** 去除单链或双链 DNA 尿嘧啶碱基; 去除含 dU 的 PCR 产物气溶胶污染; 在二代测序(NGS)应用中, 主要用于 mRNA 定向测序文库的构建; 用于提高定向诱变方法的效率和用来获得高度标记的寡核苷酸探针; 用于 PCR、qPCR、RT-PCR、RT-qPCR 体系。
- **酶储存溶液:** 20mM Tris-HCl (pH 7.5), 50mM NaCl, 0.1mM EDTA, 1mM DTT, 50% (v/v) glycerol。
- **10X Heat-labile Bacterial UDG Buffer:** 100mM Tris-HCl, 500mM KCl, 15mM MgCl<sub>2</sub>, pH 8.3 at 25°C。
- **失活或抑制:** 50°C 加热 10min 可以使 Heat-labile Bacterial UDG 完全失活。

#### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D7362S-1	Heat-labile Bacterial UDG (1U/μl)	100μl
D7362S-2	10X Heat-labile Bacterial UDG Buffer+ Salt	500μl
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D7362M-1	Heat-labile Bacterial UDG (1U/μl)	500μl
D7362M-2	10X Heat-labile Bacterial UDG Buffer+ Salt	2.5ml
—	说明书	1份

#### 保存条件:

-20°C保存, 至少一年有效。

#### 注意事项:

- Heat-labile Bacterial UDG 酶在大多数 PCR 或 RT-PCR 体系中均具有活性, 但对于自行使用的 PCR 或 RT-PCR 体系, 首次使用时建议先测试一下是否和所使用的体系兼容。通常取含 dUTP 的 PCR 扩增产物, 参考图 1 加入适量 UDG, 观察能否有效降解含 dUTP 的 PCR 扩增产物。本产品会被高离子强度(>100mM)所抑制。
- dNTP/dUTP 推荐选购碧云天的 D7376 dNTP/dUTP Mixture (2.5mM each/5mM)。
- Heat-labile Bacterial UDG 酶对双链 DNA 的活性低于对单链 DNA 的活性, 对小的 U-DNA 寡核苷酸和 dUMP 有活性, 但对 RNA 或正常的不含 dUTP 的 DNA 没有活性。
- Heat-labile Bacterial UDG 酶活对于金属离子没有依赖性, 在 Mg<sup>2+</sup>或 EDTA 的存在情况下均具有活性。
- 由 Heat-labile Bacterial UDG 酶消化产生的 DNA 链的无碱基位点可通过加热, 碱处理或核酸内切核酸酶处理而除去。通常 PCR 反应过程中的加热步骤可以确保 UDG 酶消化的位点被完全剪切开。
- Heat-labile Bacterial UDG 酶可以在 PCR 反应前清除不慎污染的含 dUTP 的 PCR 产物, 从而避免由于污染导致的 PCR 假阳性结果。
- 如果需要将 Heat-labile Bacterial UDG 酶应用于 One-Step RT-PCR 或者 One-Step qRT-PCR 体系, 需要选择耐热反转录酶, 并将逆转录温度设置为 50-55°C。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### 使用说明:

1. 按照常规反应体系设置 PCR 或 RT-PCR 反应体系, 同时加入 Heat-labile Bacterial UDG 至最终浓度为 0.02U/μl, 混匀。通常仅加入 PCR 或 RT-PCR 的 buffer 即可, 无需加入 UDG 的 buffer。
2. 25°C 孵育 5-10min (去除可能的含 dUTP 的 PCR 扩增产物的污染), 随后进入 PCR 或 RT-PCR 程序。

#### 相关产品:

产品编号	产品名称	包装
D7205	Taq DNA Polymerase	200U
D7207	Taq DNA Polymerase	1000U
D7209	Taq DNA Polymerase	5000U
D7211S	Hot-Start Taq DNA Polymerase	200U
D7211M	Hot-Start Taq DNA Polymerase	1000U

D7211L	Hot-Start Taq DNA Polymerase	5000U
D7360S	Uracil-DNA Glycosylase ( <i>E. coli</i> )	1000U
D7360M	Uracil-DNA Glycosylase ( <i>E. coli</i> )	5000U
D7364S	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Cod)	200U
D7364M	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Cod)	1000U
D7364L	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Cod)	5000U
D7359-250µl	dUTP (100mM)	250µl
D7359-1ml	dUTP (100mM)	1ml
D7366	dNTP (4 管套装, 100mM)	4×50µl
D7376-1ml	dNTP/dUTP Mixture (2.5mM each/5mM)	1ml
D7376-5ml	dNTP/dUTP Mixture (2.5mM each/5mM)	5ml
FTUB322	BeyoGold™ PCR 管 (0.2ml, 凸盖, 透明)	1000 个/包
FTUB323	BeyoGold™ PCR 管 (0.2ml, 凸盖, 透明)	1000 个/包,10 包/箱
FTUB328	BeyoGold™ PCR 八联排管 (0.2ml, 凸盖, 透明)	125 排/盒
FTUB329	BeyoGold™ PCR 八联排管 (0.2ml, 凸盖, 透明)	125 排/盒,10 盒/箱
ST876-100ml	BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile)	100ml
ST876-500ml	BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile)	500ml

Version 2020.08.10